

Adaptasi Isolat Bakteri Aerob Penghasil Gas Hidrogen pada Medium Limbah Organik

Nur Hidayah dan Maya Shovitri

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

E-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak—Hidrogen merupakan salah satu energi alternatif yang efisien dan ramah lingkungan. Hidrogen dapat dihasilkan oleh bakteri aerob dengan menggunakan limbah organik sebagai substratnya. Perbedaan medium dari medium pengaya ke medium limbah organik cair akan menyebabkan stres pada bakteri. Sehingga perlu adanya proses adaptasi agar bakteri mampu bertahan hidup dalam medium limbah organik. Pengadaptasian dilakukan dengan memindahkan inokulum dari medium pengaya ke medium limbah organik cair. Setelah berumur 24 jam dipindahkan kembali ke medium limbah organik cair yang baru dan diukur pertumbuhannya dengan optical density (OD_{600nm}) setiap 24 jam hingga 3 kali transfer adaptasi. Pertumbuhan bakteri aerob isolat A6, A27 dan A31 selama adaptasi menunjukkan adanya kenaikan pertumbuhan setelah mengalami tiga kali transfer adaptasi. Isolat bakteri A31 menunjukkan proses adaptasi yang signifikan mulai dari transfer I hingga transfer III. Adaptasi pertama menunjukkan adanya peningkatan OD dari 0.56, 1.02, hingga 1.3. Adaptasi kedua dari 0.62, 2.16, hingga 2.34. Adaptasi ketiga 0.54, 2.3, hingga 2.88. Hal ini menunjukkan bakteri A6, A27 dan A31 mampu hidup dalam medium limbah organik cair.

Kata Kunci: Adaptasi, Bakteri Aerob, Limbah Organik Cair, Pertumbuhan.

I. PENDAHULUAN

KETERGANTUNGAN terhadap bahan bakar fosil sebagai sumber energi membawa kita pada krisis energi dan masalah lingkungan. Sekarang ini di Indonesia telah dikembangkan berbagai sumber energi alternatif sebagai pengganti bahan bakar minyak dalam upaya menyelesaikan masalah krisis energi yang terjadi. Salah satu energi alternatif yang ramah lingkungan adalah gas hidrogen. Pembakaran gas hidrogen dapat menghasilkan energi yang lebih tinggi yaitu sekitar 142 kJ/g atau 3 kali lebih baik jika dibandingkan hidrokarbon atau minyak bumi [1].

Hidrogen dapat dihasilkan dari metabolisme bakteri [2] dengan memanfaatkan limbah organik sebagai sumber karbon dan sumber energi. Limbah organik yang banyak mengandung karbohidrat, protein, lipid, lignin dan lemak dapat digunakan sebagai substrat oleh bakteri untuk menghasilkan produk akhir berupa H_2 dan CO_2 [3].

Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS telah memiliki 38 isolat bakteri aerob yang mampu menghasilkan biogas dari limbah organik. Ada

kemungkinan salah satu gas yang dihasilkan adalah gas hidrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengadaptasikan isolat bakteri aerob dengan kode A6, A27 dan A31 pada medium limbah organik cair agar dapat menstimulus produksi biogasnya.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Pembuatan Medium Limbah Organik Cair (LOC)

Limbah padat organik yang memiliki kandungan protein dan lemak, seperti organ buangan ikan, ayam, dan sapi sebanyak 1500 gr dicampur dengan 3000 ml limbah cair yang berupa sisa perendaman ikan. Selanjutnya, campuran ini diblender hingga homogen dan didapatkan filtrat (3 l). Kemudian ditambahkan dengan 3 gr pupuk NPK (0,1 % dari total volume limbah organik) dan 3 gr pupuk Urea (0,1 % dari total volume limbah organik). Setelah penambahan pupuk NPK dan urea, medium juga ditambahkan dengan 2,4 gram $FeCl_2$ [4]. Setelah itu pH medium diatur hingga didapat pH netral (pH=7), dengan menambahkan NaOH 2M atau HCl 2M tetes demi tetes menggunakan *pipet Pasteur*. Selanjutnya, medium limbah organik cair dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang digunakan sebagai reaktor masing-masing sebanyak 240 ml. Kemudian ditutup dengan sumbat kapas dan diautoklaf selama 15 menit [5].

B. Inokulasi Isolat Bakteri Aerob ke dalam Medium Limbah Organik Cair

Isolat bakteri aerob yang digunakan adalah isolat A6, A27 dan A31 yang cenderung masuk ke genus *Bacillus* sp. berdasarkan karakter biokimia. Adaptasi dilakukan dengan cara mengambil satu ose biakan bakteri aerob dari limbah organik padat diinokulasikan ke dalam 10 ml medium limbah organik cair dan diinkubasi selama 24 jam dengan agitasi kemudian diremajakan dengan cara mengambil inokulum dari biakan usia 24 jam sebanyak 100 μ l dan diinokulasikan ke medium baru yang sama. Peremajaan isolat dilakukan sebanyak 3 kali.

C. Pengukuran pertumbuhan Isolat aerob

Selama masa adaptasi, pertumbuhan isolat bakteri diukur berdasarkan *optical density* pada panjang gelombang 600nm setiap 24 jam sekali selama 3 hari masa inkubasi. Sampel biakan bakteri aerob diambil dengan menggunakan pipet

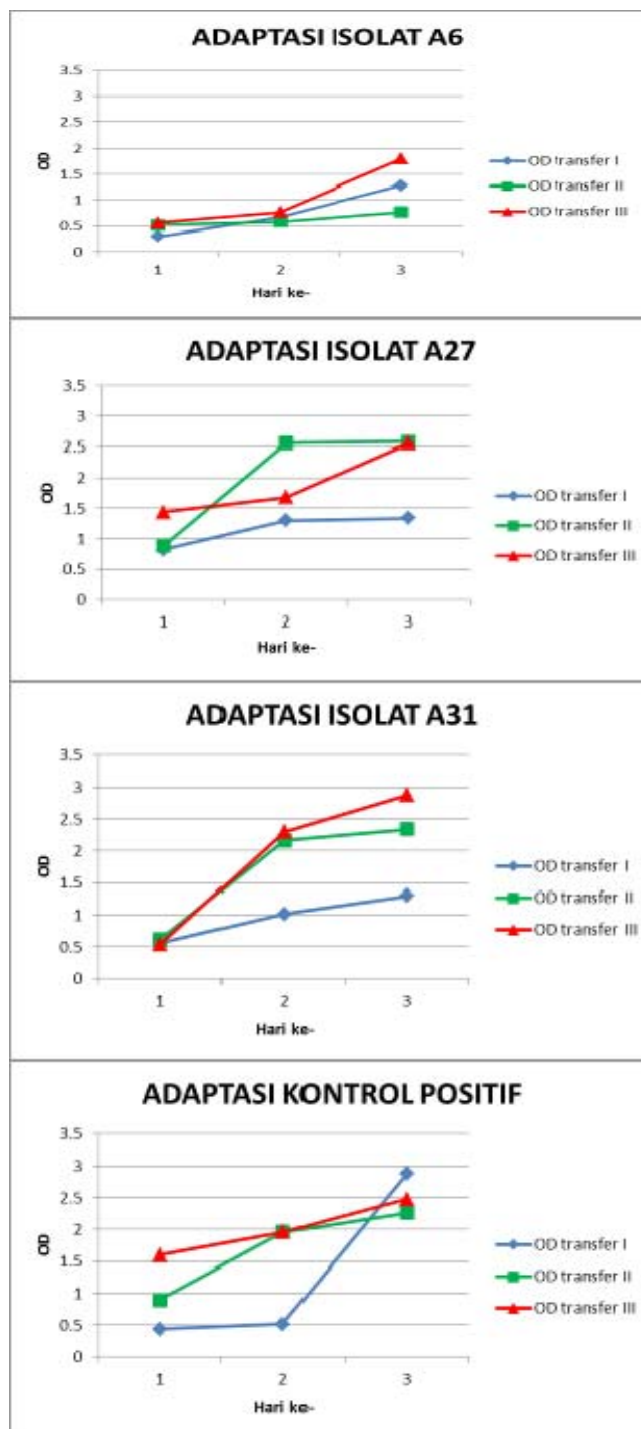
mikro sebanyak 100 μ l kemudian diencerkan dengan aquades hingga 2 ml dalam kuvet dan dideteksi absorbansi warnanya dengan menggunakan spektrofotometer yang telah dikalibrasi terlebih dahulu. Larutan blanko yang digunakan untuk kalibrasi spektrofotometer adalah medium LOC yang diencerkan dengan pengenceran yang sama dengan sampel. Hasil absorbansinya kemudian dikalikan dengan factor pengenceran yaitu 20 kali.

III. HASIL DAN DISKUSI

Adaptasi merupakan suatu proses menyesuaikan diri suatu isolat bakteri ke dalam suatu medium baru agar isolat bakteri tersebut mampu bertahan hidup. Perubahan lingkungan dapat mengakibatkan perubahan sifat morfologi dan fisiologi mikroba sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan viabilitas mikroba dalam medium baru [6].

Perbedaan tipe medium dari medium padat ke medium cair juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan viabilitas bakteri, meskipun medium yang digunakan adalah sama. Pada medium padat, pertumbuhan bakteri berupa pertumbuhan yang melekat pada permukaan medium (*attached growth*), sedangkan pada medium cair tipe pertumbuhannya akan menyerupai suspensi larut (*suspended growth*) [7]. Bakteri dalam keadaan tersuspensi akan tumbuh merata di semua bagian medium, baik yang di permukaan, di kolom air, bahkan di dasar. Bakteri akan mendapatkan oksigen untuk respirasi apabila berada di daerah permukaan yang terpapar langsung dengan udara. Sedangkan bakteri yang tumbuh di daerah kolom air dan di dasar akan mendapatkan oksigen berupa oksigen terlarut dalam air. Adanya agitasi dapat menyebabkan pemerataan pertumbuhan dan suplai oksigen bagi bakteri. Perbedaan inilah yang menyebabkan bakteri perlu melakukan adaptasi dengan kondisi medium yang baru, yang memiliki karakteristik berbeda dengan medium awal.

Adaptasi dilakukan dengan tiga kali transfer adaptasi. Adaptasi I merupakan perpindahan isolat dari medium awal ke medium limbah organik cair. Transfer II dilakukan dengan memindahkan inokulum dari transfer I yang berusia 24 jam ke medium limbah organik cair yang baru. Transfer III yaitu inokulum dari transfer kedua yang berusia 24 jam dipindahkan kembali ke medium limbah organik cair yang baru. Pada jam ke-24, 48, dan 72 setiap transfer diukur pertumbuhan bakterinya. Transfer dilakukan setiap 24 jam karena sebelum penelitian ini dilakukan, belum diketahui siklus pertumbuhan masing-masing isolat. Secara umum bakteri telah melewati fase lag, log, stasioner dan kematian dalam waktu 24 jam. Gambar 1 menunjukkan kondisi pertumbuhan isolat A31.



Gambar 1. Adaptasi isolat bakteri aerob A6, A27, A31 dan K⁺

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat bahwa isolat bakteri aerob A6, A27, dan A31 mengalami kenaikan pertumbuhan setelah mengalami tiga kali transfer adaptasi. Isolat bakteri A31 menunjukkan proses adaptasi yang signifikan mulai dari transfer I hingga transfer III. Pada kontrol positif (*Escherichia coli*) juga terjadi pertumbuhan tinggi ketika sudah melewati proses transfer III. Hasil ini menunjukkan bahwa *E. coli* memang bakteri heterotroph universal yang mampu beradaptasi dan hidup pada segala jenis medium.

Adanya pertumbuhan bakteri aerob (Gambar 1) pada medium limbah organik cair menunjukkan bahwa bakteri mampu memanfaatkan nutrisi yang ada pada medium tersebut. Kebutuhan bakteri berupa:

1. Sumber energi yang dapat berasal dari cahaya (fototrof) dan karbon organik (kemoorganotrof)
2. Sumber karbon berupa karbon anorganik (karbon dioksida) dan karbon organik (seperti karbohidrat).
3. Sumber nitrogen dalam bentuk garam nitrogen anorganik (seperti kalium nitrat) dan nitrogen organik (berupa protein dan asam amino).
4. Unsur non logam seperti sulfur dan fosfor
4. Unsur logam (seperti kalium, natrium, magnesium, besi, tembaga dsb).
5. Air untuk fungsi – fungsi metabolik dan pertumbuhan.[8]

Bakteri dapat tumbuh dalam medium yang mengandung satu atau lebih persyaratan nutrisi tersebut. Medium limbah organik cair yang digunakan dalam penelitian ini tidak dilakukan analisa komposisi penyusunnya, akan tetapi medium limbah organik cair ini diasumsikan mengandung nutrisi yang lengkap bagi bakteri, karena berasal dari limbah pasar yang mengandung air ikan, udang, cumi, juga potongan potongan ayam, dan insang ikan yang kaya akan karbohidrat, protein dan lemak. Selain itu, dalam medium limbah organik cair ini juga ditambahkan unsur Fe dari $\text{FeCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NPK, dan urea, sehingga membantu bakteri dalam proses adaptasinya. Penambahan unsur Fe ini digunakan sebagai aktivator enzim hidrogenase dari bakteri sehingga bakteri mampu menghasilkan gas Hidrogen.

IV. KESIMPULAN

Adaptasi bakteri aerob penghasil gas hidrogen dengan kode isolat A6, A27 dan A31 menunjukkan adanya kenaikan pertumbuhan setelah mengalami tiga kali transfer adaptasi. Isolat bakteri A31 menunjukkan proses adaptasi yang signifikan mulai dari transfer I hingga transfer III. Adaptasi pertama menunjukkan adanya peningkatan OD dari 0.56, 1.02, hingga 1.3. Adaptasi kedua dari 0.62, 2.16. hingga 2.34. Adaptasi ketiga 0.54, 2.3, hingga 2.88. Hal ini menunjukkan bakteri aerob dengan kode isolat A6, A27 dan A31 mampu hidup dalam medium limbah organik cair.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir ini, yaitu kepada Ibu Dr.rer.nat.Ir. Maya Shovitri, M.Si selaku ketua jurusan Biologi ITS sekaligus sebagai dosen pembimbing. Dosen penguji Ibu Nengah Dwiaita Kuswytasari, S.Si., M.Si., Bapak Aunurohim, S.Si, DEA., dan Ibu Dini Ermavitalini, S.Si, M.Si yang telah memberikan saran dan arahan. Bapak Mukhammad Muryono, S.Si., M.Si., selaku koordinator kerja praktek dan tugas akhir Jurusan Biologi ITS yang telah memberikan arahan dan bantuan. Kementerian Agama RI, yang telah memberikan beasiswa kepada penulis. Kedua orang tua,

kakak, dan adik yang selalu memberikan doa dan dukungan tiada henti. Teman-teman angkatan 2008 Biologi ITS dan PBSB ITS. Seluruh elemen laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi ITS, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hafez. Hisham., George. "Comparative Assessment of Decoupling of Biomass and Hydraulic Retention Time In Hydrogen Production Bioreactor", *Int J of hydrogen energy*. 34 (2011)7603-7611.
- [2] Kirtay, Elif. "Recent Advances In Production of Hydrogen From Biomass", *Energy Conversion And Management* 52(2011)1778-1789.
- [3] Hawkes FR, Dinsdale R, Hawkes DL, Hussy I. "Sustainable Fermentative Hydrogen Production: Challenges For Process Optimisation", *Int J Hydrogen Energy*;27(2002): 1339-1347.
- [4] Lee, Y. J., Miyahara T., dan Noike T. "Effect of Iron Concentration on Hydrogen Fermentation", *Bioresource Technology*. 80 (2001) : 227-231.
- [5] Lee YJ, Miyahara T, Noike T." Effect Of Iron Concentration on Hydrogen Fermentation", *Bioresource Technology* 80(2010):227-231.
- [6] Wirda, F. R dan Handajani, M. 2009. *Degradation of Organic Compound in Liquid Phase of Biowaste With Wash Water Variation at Ratio 1:2 In Reaktor Batch*. Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung. www.ftsl.itb.ac.id/kk/air.../PI-SW6-Feby-Riyani-Wirda-15305090.pdf diakses pada tanggal 13 Februari 2011 pukul 12.22 wib.
- [7] Li C, Fang HHP. "Fermentative Hydrogen Production from Waste Water and Solid Wastes by Mixed Cultures", *Crit Rev Environ Sci Technol*;37 No.1(2007):31-39.
- [8] Afriani, Suryono dan H. Lukman. Karakteristik dadih susu sapi hasil fermentasi beberapa starter bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih asal kabupaten kerinci, *Agrinak*, Vol. 01.(2011, September)36-42.